

## 石地钱 *Reboulia hemisphaerica* 光系统 II 对氮沉降的响应特征\*

雷纯义<sup>1</sup>, 刘蔚秋<sup>2</sup>, 刘滨扬<sup>3</sup>, 张以顺<sup>2</sup>

(1. 广东黑石顶省级自然保护区, 广东 肇庆 526536;

2. 中山大学生命学科学学院, 广东 广州 510275;

3. 暨南大学生态学系, 广东 广州 510632)

**摘要:** 对石地钱 *Reboulia hemisphaerica* 在不同模拟氮沉降条件下的叶绿素荧光动力学特征进行了研究。结果显示加氮对石地钱的光系统 II 产生明显影响, 40 和 60 kg · hm<sup>-2</sup> · a<sup>-1</sup> (以 N 质量计) 处理对其光系统 II 产生严重破坏。加氮导致植物单位面积捕获的光能降低, 并导致 PS II 反应中心电子受体侧的氧化还原状态及异质性发生变化, 破坏电子传递链, 叶片吸收的光能无法在电子传递链中消耗, 迫使其大幅提高荧光和热耗散的比率以消耗掉电子传递链中的能量, 从而使光系统 II 的性能指数大幅下降。对推动力指数的分析显示, Q<sub>A</sub><sup>-</sup> 后面的电子传递对加氮最为敏感。

**关键词:** 氮沉降; 叶绿素荧光诱导曲线; 石地钱 *Reboulia hemisphaerica*

**中图分类号:** Q945.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2010) 01-0072-04

### Responses of Photosystem II of *Reboulia hemisphaerica* to Nitrogen Deposition

LEI Chunyi<sup>1</sup>, LIU Weiqiu<sup>2</sup>, LIU Binyang<sup>3</sup>, ZHANG Yishun<sup>2</sup>

(1. Heishiding Nature Reserve of Guangdong Province, Zhaoqing 526536, China;

2. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

3. Department of Ecology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** Chlorophyll fluorescence transient kinetics of *Reboulia hemisphaerica* under different simulated nitrogen deposition conditions was studied. The results showed that nitrogen treatments caused changes of chlorophyll fluorescence transient of *Reboulia hemisphaerica*. N treatments affected PS II by reducing the capacity of energy trap of unit area as well as changing the redox states and the heterogeneity of the filling up of the PS II acceptor side, destroying the electron flow, especially the electron flow beyond Q<sub>A</sub><sup>-</sup>, as a result, the absorbed energy can not be consumed in the electron flow and have to be consumed by fluorescence and heat. It can be deduced from the JIP-test that 40 and 60 kg · hm<sup>-2</sup> · a<sup>-1</sup> treatments lead serious damages to *Reboulia hemisphaerica*.

**Key words:** nitrogen deposition; chlorophyll fluorescence transient kinetics; *Reboulia hemisphaerica*

人为排放的氮(N)对大气造成的污染日趋严重, 全球化的大气N沉降增加已引起广泛关注<sup>[1]</sup>。高氮对植物的代谢产生很大的影响, 如改变光合速率、提高膜透性、改变细胞pH值、导致营养元素

比例改变等<sup>[2-3]</sup>。由于苔藓植物没有角质层等保护性结构, 主要从空气中吸收养分, 因此多数苔藓植物对N沉降的敏感度远高于维管植物<sup>[4-6]</sup>。苔藓植物在氮过量时, 不仅对氮代谢产生显著影响, 导

\* 收稿日期: 2009-04-09

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(06300428); 国家自然科学基金资助项目(30770398, U0633002)

作者简介: 雷纯义(1965年生), 男, 工程师; 通讯作者: 刘蔚秋; E-mail: lsslwq@mail.sysu.edu.cn

致硝酸还原酶诱导活性降低, 总氮含量下降, 同时对碳代谢过程亦产生显著影响, 使光合速率降低, 淀粉含量下降而可溶性糖含量上升<sup>[7]</sup>。

叶绿素荧光诱导动力学是 Kautsky 于 1931 年发现, 也称为 Kautsky 效应<sup>[8]</sup>。叶绿素荧光技术被认为是检测植物光合机构, 特别是光系统 II 行为的有效工具。近年来发展起来的针对快速叶绿素荧光诱导曲线的数据分析和处理方法—JIP - 测定 (JIP-test) 为深入研究光合作用原初反应提供了有力的工具。但目前尚未见有人从叶绿素荧光动力学的角度研究氮沉降对植物光合机构的影响。石地钱 *Reboulia hemisphaerica* (L.) Raddi 广泛分布于我国华南地区, 本文研究了其在模拟 N 沉降条件下的叶绿素荧光动力学特征, 分析过量氮对其光合机构及过程的影响, 探讨过量氮对植物光合系统的影响机理。

## 1 实验材料及方法

### 1.1 研究地概况

研究地设立于广东省肇庆市封开县七星镇内的黑石顶自然保护区, 地理位置 23°27'N, 111°53'E, 海拔 145 ~ 927 m, 属亚热带湿润季风气候, 年均气温 19.6 °C, 年降雨量 1 743.8 mm, 年均相对湿度在 80% 以上。自然概况见有关文献<sup>[9-10]</sup>。保护区内平均每年雨水氮沉降中, 氨态氮为 4.74 kg · hm<sup>-2</sup> (以 N 质量计, 下同), 硝态氮为 5.58 kg · hm<sup>-2</sup> (以 N 质量计, 下同, 未发表数据)。

### 1.2 样地设置及处理

1.2.1 样地设置 于 2006 年 2 月在保护区北缘海拔 200 m 处路边自然生长石地钱 *Reboulia hemisphaerica* (L.) Raddi 的石坡上设置样地。N 处理设 1 个对照及 3 个 N 处理水平 (20 kg · hm<sup>-2</sup> · a<sup>-1</sup>, 40 kg · hm<sup>-2</sup> · a<sup>-1</sup>, 60 kg · hm<sup>-2</sup> · a<sup>-1</sup>), 每种处理设 3 个重复, 共设立样地 12 个。每个样地面积为 30 cm × 60 cm。

1.2.2 加氮处理 于 2006 年 5 月 - 2008 年 2 月间分 8 次进行加样处理 (每年 4 次), 每次加氮量分别为 0, 5, 10, 15 kg · hm<sup>-2</sup>, 分别配成不同浓度的 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 溶液 200 mL 用手持式喷雾器均匀喷洒至样地。

### 1.3 叶绿素荧光测定

叶绿素荧光利用植物效率仪 (PEA, Hansatech 公司, 英国) 于室温下测定。在最后一次加氮处理的 15 d 后, 于各样地分别选取生长正常, 长势在该样地中较好的植株, 每个样地选 3 份材料进行

测定, 测定前材料暗适应 20 min。

叶绿素荧光诱导曲线依据 JIP - 测定进行分析, O、J、I、P 分别是指照光初始时、2 ms 时、30 ms 时及 1 s 时的荧光值。本文利用的参数主要包括: ①单位反应中心吸收的光能 (ABS/RC), 捕获的光能 (TR<sub>0</sub>/RC), 用于电子传递的能量 (ET<sub>0</sub>/RC) 和热耗散能量 (DI<sub>0</sub>/RC); ②单位材料面积吸收的光能 (ABS/CS), 捕获的光能 (TR<sub>0</sub>/CS), 用于电子传递的能量 (ET<sub>0</sub>/CS) 和热耗散能量 (DI<sub>0</sub>/CS); ③最大光化学效率 (φ<sub>P0</sub>), 反应中心捕获的激子中用于推动电子传递到电子传递链中超过 Q<sub>A</sub><sup>-</sup> 的其它电子受体的激子占用于推动 Q<sub>A</sub> 还原激子的比率 (ψ<sub>0</sub>), 用于热耗散的量子比率 (φ<sub>D0</sub>), 用于电子传递的量子产额 (φ<sub>E0</sub>); ④以吸收光能为基础的性能指数 PI<sub>abs</sub>, 及其推动力指数 DF<sub>abs</sub>。各参数的计算参见有关文献<sup>[11-12]</sup>。

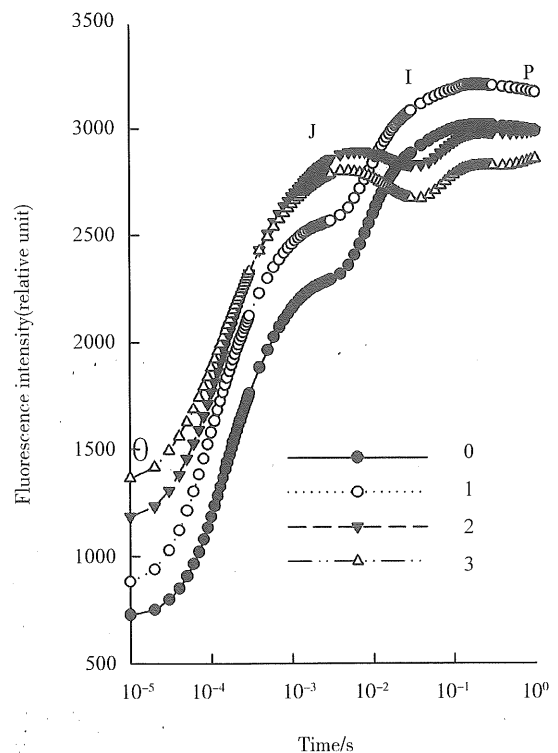


图 1 加氮 2 a 后石地钱叶绿素荧光平均诱导曲线  
Fig. 1 Chlorophyll fluorescence kinetics (mean curves) of *Reboulia hemisphaerica* after two years of N treatment (0、1、2 和 3 分别代表对照, 20、40 和 60 kg · hm<sup>-2</sup> · a<sup>-1</sup> 处理, 平均曲线包含 n = 9 次荧光测定, 下同)

## 2 结果与分析

### 2.1 叶绿素 a 荧光诱导曲线

由图 1 可见, 对照及低 N 处理的石地钱叶绿素荧光诱导曲线的形状相似, 但是低氮处理材料的

总体荧光值高于对照材料。中氮和高氮处理材料不仅在起始点  $F_0$  的值高于对照及低 N 处理材料, 诱导曲线形状亦明显异于后者, 前者在 J-I 点间呈下降趋势, 至 I 点后又上升至 P 点, 而后者不存在明显的 I 点, 在 J-P 期间荧光值持续上升。O 点荧光值反映了 PS II 反应中心接受光量子的最大限度, 随加 N 浓度升高  $F_0$  依次升高显示加 N 导致石地钱在 PS II 反应中心完全开放时接受光量子的能力减小, 而中高氮处理使诱导曲线的形状发生改变, 特别是 J-P 点间的变化说明此时 PS II 反应中心电子受体侧 (包括初级醌受体  $Q_A$ , 次级醌受体  $Q_B$  和质体醌 PQ) 的氧化还原状态及异质性发生变化<sup>[13]</sup>。

## 2.2 叶绿素 a 荧光 JIP - 测定

由于 JIP 测定获得的数据量大, 常用雷达图对多个参数进行分析。由图 2 可见, 加氮使单位反应中心吸收的光能 (ABS/RC) 升高, 对单位反应中心捕获的光能 ( $TR_0/RC$ ) 影响不大, 但使单位面积反应中心的数量 (RC/CSm) 下降, 最终导致单位面积捕获的光能 ( $TR_0/CSm$ ) 降低, 同时捕获的光能中用于传递到电子传递链  $Q_A^-$  后的电子受体的比率 ( $\psi_0$ )、用于电子传递的量子产额 ( $\phi_{E0}$ ) 单位面积和单位反应中心的量子产额均大幅降低 ( $ET_0/CSm$ ,  $ET_0/RC$ ), 而单位面积的热耗散 ( $DI_0/CSm$ ) 及用于热耗散的能量比例 ( $\phi_{D0}$ ) 大幅上升, 导致性能指数 ( $PI_{abs}$ ) 大幅下降, 其中 40 和 60  $kg \cdot hm^{-2} \cdot a^{-1}$  处理使  $PI_{abs}$  降至仅为对照的 8% 和 3% 左右, 可见光系统 II 的光合效率受到严重抑制。

性能指数的推动力 ( $DF_{abs}$ ) 可以分解成 3 个部分, RC/ABS (吸收单位光能的反应中心数),  $\phi_{P0}/(1-\phi_{P0})$  和  $\psi_0/(1-\psi_0)$ <sup>[12]</sup>, 由图 3 可见加氮使组成 DF 的三个部分均减小, 但以  $\psi_0/(1-\psi_0)$  的变化最明显, 而  $\psi_0$  反映捕获的光能中用于推动电子传递链中  $Q_A^-$  后的电子传递的比率, 说明  $Q_A^-$  后面的反应对加氮最为敏感。

## 3 结 论

植物光合作用受有效氮的强烈影响<sup>[14]</sup>, 在对种子植物的研究中发现, 一定量氮沉降使可使组织叶绿素含量升高, 净光合速率增加, 但过量氮沉降则会产生相反的效应<sup>[6, 15]</sup>。本研究结果表明, 模拟氮沉降对石地钱光系统 II 产生明显影响, 特别是 40 和 60  $kg \cdot hm^{-2} \cdot a^{-1}$  处理对地钱造成严重胁迫。

一方面导致单位单位面积捕获的光能降低, 另一方面加氮导致 PS II 反应中心电子受体侧的氧化还原状态及异质性发生变化, 使电子传递链受到破坏, 叶片吸收的光能无法在电子传递链中消耗, 迫使其大幅升高荧光和热耗散的比率以消耗掉电子传递链中的能量, 且以  $Q_A^-$  后面的反应对加氮最为敏感。

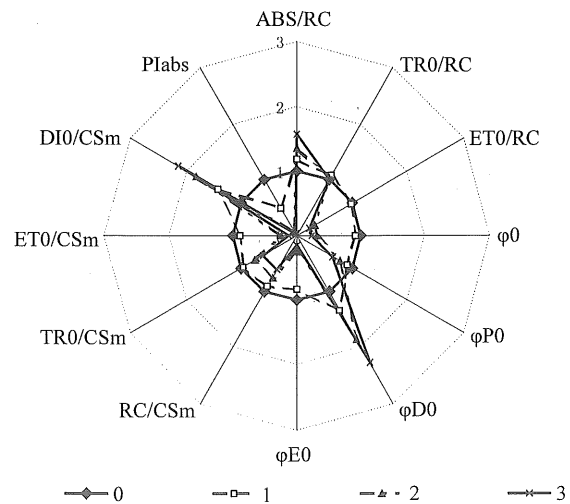


图 2 加氮 2 a 后石地钱部分 JIP - 分析参数雷达图  
Fig. 2 Spider plot showing selected JIP-test parameters of *Reboulia hemisphaerica* after two years of N treatment

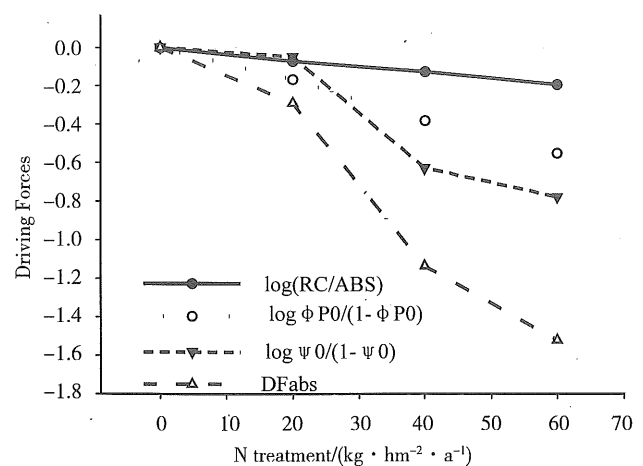


图 3 以吸收光能为基础的推动力指数及其 3 个组成部分  
Fig. 3 The driving force based on equal number of photons absorbed by PS II and its three components

(各算术值以处理样品与对照的差值表示, 参数定义参见材料及方法)

## 参考文献:

- [1] GALLOWAY J N, COWLING E B. Reactive nitrogen and the world: 200 years of change[J]. *Ambio*, 2002, 31:

- 64 - 71.
- [2] SOARES A, PEARSON J. Short-term physiological responses of mosses to atmospheric ammonium and nitrate [J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 1997, 93: 225 - 254.
- [3] PEARCE I S K, WOODIN S J, VAN DER WAL R. Physiological and growth responses of the montane bryophyte *Racomitrium lanuginosum* to atmospheric nitrogen deposition [J]. *New Phytologist*, 2003, 160: 145 - 155
- [4] LEE J A, CAPORN S J M. Ecological effects of atmospheric reactive nitrogen deposition on semi-natural terrestrial ecosystems [J]. *New Phytologist*, 1998, 139: 127 - 134.
- [5] SKRINDO A, ØKLAND R H. Effects of fertilization on understorey vegetation in a Norwegian *Pinus sylvestris* forest [J]. *Applied Vegetation Science*, 2002, 5: 167 - 172.
- [6] TOMASSEN H B M, SMOLDERS A J P, LAMERS L P M, et al. Stimulated growth of *Betula pubescens* and *Molinia caerulea* on ombrotrophic bogs: role of high levels of atmospheric nitrogen deposition [J]. *Journal of Ecology*, 2003, 91: 357 - 370.
- [7] 刘滨扬, 刘蔚秋, 雷纯义, 等. 三种苔藓植物对模拟 N 沉降的生理响应 [J]. *植物生态学报*, 2009, 33 (1): 141 - 149.
- [8] KAUTSKY H, HIRSCH A. Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation [J]. *Naturwissenschaften*, 1931, 19: 96
- [9] 刘雄恩, 王伯荪. 黑石顶自然保护区植被分类系统和主要类型及分布 [J]. *生态科学*, 1987(1/2): 19 - 34.
- [10] LI Z H, PIIPPO S. Preliminary list of bryophytes of Heishiding Nature Reserve, Guangdong Province, China [J]. *Tropical Bryology*, 1994, 9: 35 - 41.
- [11] VAN HEERDEN P D R, STRASSER R J, KRÜGER G H J. Reduction of dark chilling stress in N<sub>2</sub>-fixing soybean by nitrate as indicated by chlorophyll a fluorescence kinetics [J]. *Physiologia Plantarum*, 2004, 121: 239 - 249.
- [12] 李鹏民, 高辉远, STRASSER R J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用 [J]. *植物生理学与分子生物学学报*, 2005, 31 (6): 559 - 566.
- [13] STRASSER R J, SRIVASTAVA A, GOVINDJEE. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1995, 61 (1): 32 - 42.
- [14] LAMBERS H, STUART CHAPIN I I I F, PONS T L. *Plant physiological Ecology* [M]. New York: Springer-verlag, 1998: 10 - 95.
- [15] 樊后保, 黄玉梓. 陆地生态系统氮饱和对植物影响的生理生态机制 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2006, 32 (4): 395 - 402.

(上接第 71 页)

- [4] SADAKANE M, STECKHAN E. Electrochemical properties of polyoxometalates as electrocatalysts [J]. *Chem Rev*, 1998, 98: 219 - 237.
- [5] RONG C Y, ANSON F C. Simplified preparations and electrochemical behavior of two Chromium-substituted heteropolytungstate anions [J]. *Inorg Chem*, 1994, 33: 1064 - 1070.
- [6] 王崇太, 华英杰, 李高仁, 等. Cr(III) - 取代磷钨杂多配合物对 4 - 甲基吡啶的电催化氧化作用 [J]. *化学学报*, 2008, 66(8): 835 - 840.
- [7] 华英杰, 王崇太, 杨雪, 等. DR301 树脂对 Keggin 型铁取代杂多阴离子的吸附性能研究 [J]. *化学学报*, 2009, 67(5): 355 - 360.
- [8] WINTER M J. *d-Block chemistry* [M]. New York: Oxford University Press, 1994: 42.
- [9] 何炳林, 黄文强. 离子交换与吸附树脂 [M]. 上海: 科技教育出版社, 1995: 121 - 134.
- [10] 邹卫华, 陈宗璋, 韩润平, 等. 锰氧化物/石英砂 (MOCS) 对铜和铅离子的吸附研究 [J]. *环境科学学报*, 2005, 25(6): 779 - 782.
- [11] 王小梅, 彭江鸣, 赵晨曦, 等. 大孔交联聚(对乙烯基苄基苯胺)树脂对苯酚的吸附 [J]. *化学学报*, 2008, 66(8): 990 - 994.
- [12] 黄贱苟, 徐满才, 李海涛, 等. 非水体系中大孔交联酰胺基树脂的吸附热力学 [J]. *物理化学学报*, 2003, 19(3): 208 - 211.
- [13] LI A M, ZHANG Q X, CHEN J L, et al. Adsorption of phenolic compounds on Amberlite XAD-4 and its acetylated derivative MX-4 [J]. *React Funct Polym*, 2001, 49: 225 - 230.